

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

15.4.2004

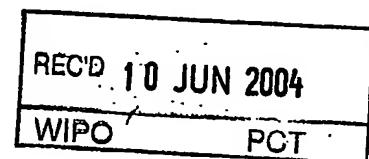
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 4月16日

出願番号
Application Number: 特願2003-111948
[ST. 10/C]: [JP2003-111948]

出願人
Applicant(s): アークレイ株式会社

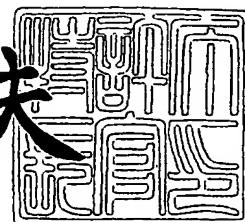


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 5月27日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 P15-109416
【提出日】 平成15年 4月16日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 G01N 21/03
G01N 33/48
【発明の名称】 試薬部対面分析用具およびこの分析用具の製造方法
【請求項の数】 13
【発明者】
【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 57 アークレイ株式
会社内
【氏名】 永川 健児
【発明者】
【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 57 アークレイ株式
会社内
【氏名】 星島 光博
【特許出願人】
【識別番号】 000141897
【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 57
【氏名又は名称】 アークレイ株式会社
【代理人】
【識別番号】 100086380
【弁理士】
【氏名又は名称】 吉田 稔
【連絡先】 06-6764-6664
【選任した代理人】
【識別番号】 100103078
【弁理士】
【氏名又は名称】 田中 達也

【選任した代理人】**【識別番号】** 100105832**【弁理士】****【氏名又は名称】** 福元 義和**【選任した代理人】****【識別番号】** 100117167**【弁理士】****【氏名又は名称】** 塩谷 隆嗣**【選任した代理人】****【識別番号】** 100117178**【弁理士】****【氏名又は名称】** 古澤 寛**【手数料の表示】****【予納台帳番号】** 024198**【納付金額】** 21,000円**【提出物件の目録】****【物件名】** 明細書 1**【物件名】** 図面 1**【物件名】** 要約書 1**【包括委任状番号】** 0103432**【プルーフの要否】** 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 試薬部対面分析用具およびこの分析用具の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料中の特定成分と試薬を反応させるための反応空間を備え、かつ上記特定成分を分析する際に利用される分析用具であって、

上記反応空間を規定する規定面には、試薬を含み、かつ反応空間に試料が供給されたときに溶解する試薬部が形成されており、

上記試薬部は、互いに対面する第1および第2試薬部を有していることを特徴とする、試薬部対面分析用具。

【請求項 2】 上記第1および第2試薬部は、互いに分断されている、請求項1に記載の試薬部対面分析用具。

【請求項 3】 上記第1試薬部と、上記第2試薬部とは、試薬の組成が異なっている、請求項1または2に記載の試薬部対面分析用具。

【請求項 4】 上記試薬部は、発色試薬を含んでおり、比色により試料の分析を行えるように構成されている、請求項1ないし3のいずれかに記載の試薬部対面分析用具。

【請求項 5】 上記規定面は、上記第1試薬部が形成された第1試薬保持領域と、上記第2試薬部が形成され、かつ上記第1試薬保持領域の法線方向において上記第1試薬保持領域に対面する第2試薬保持領域と、を含んでおり、

上記第1試薬保持領域と上記第2試薬保持領域との対面距離は、 $300\mu m$ 以下とされている、請求項1ないし4のいずれかに記載の試薬部対面分析用具。

【請求項 6】 上記反応空間は、上記第1試薬部が形成された第1板材と、上記第2試薬部が形成された第2板材とを接合することにより規定されている、請求項1ないし5のいずれかに記載の試薬部対面分析用具。

【請求項 7】 上記反応空間は、上記第1試薬部が形成された第1板材と、上記第2試薬部が形成された第2板材とを、スペーサを介して接合することにより規定されており、

上記対面距離は、上記スペーサによって規定されている、請求項5に記載の試薬部対面分析用具。

【請求項8】 上記反応空間は、この反応空間において生じる毛細管力により試料を移動させるように構成されている、請求項1ないし7のいずれかに記載の試薬部対面分析用具。

【請求項9】 第1基板に第1試薬部を形成する第1試薬部形成工程と、
 第2基板に第2試薬部を形成する第2試薬部形成工程と、
 上記第1および第2試薬部が互いに対面するようにして上記第1および第2基板を互いに接合して中間体を形成する中間体形成工程と、
 を含むことを特徴とする、分析用具の製造方法。

【請求項10】 上記第1および第2試薬部形成工程においては、上記第1および第2基板に対して、複数の第1および第2試薬部が形成され、かつ、
 上記第1および第2試薬部が少なくとも1つずつ含まれるように、上記中間体を切断する工程をさらに含んでいる、請求項9に記載の分析用具の製造方法。

【請求項11】 上記第1および第2試薬部は、互いに試薬の組成が異なったものとして形成される、請求項9または10に記載の分析用具の製造方法。

【請求項12】 上記第1および第2の試薬部は、同一または略同一の組成に形成される、請求項9または10に記載の分析用具の製造方法。

【請求項13】 上記中間体形成工程の前において行われ、かつ上記第1および第2基板のうちの少なくとも一方における、上記第1または第2試薬部が形成される面に、スペーサを保持させる工程をさらに含んでいる、請求項9ないし12のいずれかに記載の分析用具の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、試料中の特定成分を分析する際に使用される分析用具に関する。

【0002】

【従来の技術】

比色により血糖値を測定する際に利用される分析用具としては、たとえば図3に示したグルコースセンサ9がある。このグルコースセンサ9は、第1および第2透明板材91, 92を、一対のスペーサ93を介して接合した形態を有して

おり、各要素91～93により、キャピラリ94が規定されたものである。キャピラリ94の内部には、血液が供給されたときに溶解する試薬部95が設けられている。この試薬部95は、発色剤、酸化還元酵素および電子伝達物質などの反応成分を含むものとして構成される。

【0003】

このようなグルコースセンサ9では、開口96を介して血液を導入した場合、キャピラリ94の内部において生じる毛細管力により、キャピラリ94に導入された血液が開口97に向けて移動する。このとき、試薬部95が溶解し、キャピラリ94の内部には、グルコース、発色剤、酸化還元酵素および電子伝達物質を含む液相反応系が構築される。

【0004】

液相反応系においては、試薬部95に含まれる反応成分やグルコースが拡散して反応が生じ、グルコースから取り出された電子が、電子伝達物質を介して発色剤に供給される。発色剤は、電子が供給されることにより発色し、この発色により液相反応系が着色される。着色の程度は、光学的手法により検知され、この検知結果に基づいて血糖値を演算することができる。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

上述のように、発色剤を発色させるためには、少なくとも、グルコースから電子を取り出す反応と、取り出した電子を発色剤に供給する反応が必要となる。一方、液相反応系において効率よく発色剤を発色させ、測定時間を短くするためには、液相反応系において、試薬部の反応成分を均一に分散させる必要がある。しかしながら、試薬部95として、試料の供給により溶解する構成を採用した場合には、局所的に反応成分の濃度が高い状態を経た後、反応成分が経時的に拡散することにより、反応成分の濃度が徐々に均一化されていく。そのため、グルコースセンサ9を用いた濃度測定では、測定時間が反応成分の拡散性に依存する傾向にある。また、グルコースは、血液をキャピラリ94に導入した初期段階では液相反応系において略均一濃度で存在するが、反応の進行にともなってグルコースが消費され、未反応のグルコースの濃度は、反応成分の濃度が高い部分において

低くなる。そのため、反応成分ばかりでなく、グルコース濃度の濃度分布ひいてはグルコースの拡散性も測定時間に影響を与えることとなる。

【0006】

グルコースセンサ9では、第1透明基板と第2透明基板との距離Hが、小さくても、200～300μmに設定されており、しかも試薬部95が第2透明基板92にのみ形成されている。そのため、液相反応系において試薬部95に含まれる反応成分の濃度を均一化させるためには、目的成分の拡散距離が大きくなってしまう。もちろん、グルコースの拡散距離も大きくなる。その結果、グルコースセンサ9では、目的とする反応状態（液相反応系の着色）を得るために時間が比較的に長く、測定時間が長いといった問題がある。この場合に、測定時間を短く設定すれば、発色剤が十分に発色していないために、高濃度領域での測定精度が低下し、また測定精度を十分に確保しようとすれば測定レンジが狭くなる。

【0007】

また、電子伝達物質としてmethoxy-PMSのような不安定な試薬（反応性の高い試薬）を用いた場合には、グルコースセンサ9の保存時において、そのような不安定な試薬が他の試薬と反応してしまう。保存時に試薬が反応してしまうと、測定誤差を生じるといった不具合が生じる。このため、単一の試薬部に複数の試薬を混在させる場合には、それらの試薬の組み合わせによっては保存安定性が悪く、測定精度が悪化してしまう。

【0008】

本発明は、このような事情のもとに考えだされたものであって、分析時間を短くでき、また高濃度領域においても精度よく分析でき、しかも保存安定性に優れる分析用具を提供することを課題としている。

【0009】

【発明の開示】

本発明では、上記した課題を解決するため、次の技術的手段を講じている。

【0010】

すなわち、本発明の第1の側面により提供される分析用具は、試料中の特定成分と試薬を反応させるための反応空間を備え、かつ上記特定成分を分析する際に

利用される分析用具であって、上記反応空間を規定する規定面には、試薬を含み、かつ上記反応空間に試料が供給されたときに溶解する試薬部が形成されており、上記試薬部は、互いに対面する第1および第2試薬部を有していることを特徴としている。

【0011】

本発明では、「対面」という用語は、特段の限定がない限りは、平面どうしの状態ばかりでなく、平面と曲面との状態および曲面どうしの状態も含むものとして使用している。

【0012】

第1および第2試薬部は、互いに分断されたものとして形成されるのが好ましい。ただし、第1および第2試薬部は、連続したものとして形成してもよい。

【0013】

第1試薬部に含まれる試薬と、第2試薬部に含まれる試薬とは、互いに異なった種類のものとするのが好ましい。そうすれば、保存時などに反応しやすい試薬どうしを第1および第2試薬部に振り分け、それらが混在しないようにすることができる。これにより、保存時における試薬相互の反応を抑制し、保存安定性を高めることができるようになる。ただし、保存時における反応性の乏しい試薬相互については、同一の試薬部に混在させてもよい。

【0014】

試薬部は、たとえば発色試薬を含んでおり、比色により試料の分析を行えるように構成される。もちろん、本発明は電極法により試料の分析を行えるように構成された分析用具についても適用でき、その場合には、試薬部は発色試薬を含んだものとして構成する必要はない。

【0015】

本発明の分析用具での分析対象となる試料は特に限定されないが、試料としては、たとえば血液や尿が挙げられる。

【0016】

規定面は、たとえば第1試薬部が形成された第1試薬保持領域と、第2試薬部が形成され、かつ第1試薬保持領域の法線方向において第1試薬保持領域に対面

する第2試薬保持領域と、を含んでいる。この場合、第1試薬保持領域と第2試薬保持領域との対面距離は、 $300\mu m$ 以下に設定するのが好ましい。

【0017】

対面距離は、 $200\mu m$ 以下とするのが好ましく、さらに好ましくは $50\mu m$ 以下とされる。ただし、試料が血球を含んだ血液のように、試料が固体成分を含むような場合、あるいは試料の粘度が大きい場合には、対面距離を不当に小さくすれば、流路における試料の移動をスムーズに行うことができないため、その場合には対面距離は、たとえば $30\mu m$ 以上とするのが好ましい。

【0018】

本発明では、「対面距離」とは、試薬が第1および第2試薬保持領域のうちの一方からその法線方向に拡散したときに、試薬が第1および第2試薬保持領域のうちの他方に到達するのに必要な距離の最大値を意味している。

【0019】

反応空間は、たとえば第1試薬部が形成された第1板材と、第2試薬部が形成された第2板材とを接合することにより規定される。第1および第2板材は、たとえばスペーサを介して接合される。この場合には、対面距離は、スペーサによって規定される。

【0020】

反応空間は、たとえば当該反応空間において生じる毛細管力により試料を移動させるように構成される。ただし、ポンプの動力をを利用して試料を移動させるように構成してもよく、また本発明の分析用具は、反応空間において必ずしも移動させるように構成する必要もない。

【0021】

本発明の第2の側面においては、第1基板の表面に第1試薬部を形成する第1試薬部形成工程と、第2基板の表面に第2試薬部を形成する第2試薬部形成工程と、上記第1および第2試薬部が互いに対面するようにして上記第1および第2基板を互いに接合して中間体を形成する中間体形成工程と、を含むことを特徴とする、分析用具の製造方法が提供される。

【0022】

ここで、「第1基板」および「第2基板」には、本発明の第1の側面に係る分析用具における第1および第2板材に相当するものの他、これらの板材となるべき複数の領域が設定されたものも含まれる。

【0023】

第1および第2試薬部形成工程においては、第1および第2基板に対して、複数の第1および第2試薬部が形成される。この場合、本発明の製造方法は、第1および第2試薬部が少なくとも1つずつ含まれるように、中間体を切断する工程をさらに含んでいるのが好ましい。

【0024】

第1および第2試薬部は、たとえば互いに異なる試薬を含むものとして形成される。そうすれば、反応性の高い試薬と、この試薬と反応しやすい試薬とを分離した分析用具を提供することができるようになる。ただし、第1および第2の試薬部は、同一または略同一の組成に形成してもよい。

【0025】

本発明の製造方法においては、中間体形成工程の前において行われ、かつ第1および第2基板のうちの少なくとも一方における、第1または第2試薬部が形成される面に、スペーサを保持させる工程をさらに含んでいるのが好ましい。この工程は、第1および第2基板に第1および第2試薬部を形成する前に行うのが好ましい。そうすれば、スペーサによって試薬部を形成する領域を規定することができ、また、試薬部が形成された部分にスペーサが保持されるといった不具合を抑制することができる。ただし、先の工程は、第1および第2試薬部を形成した後に行ってもよい。

【0026】

スペーサとしては、たとえば両面に接着性を有する両面テープが使用される。そうすれば、スペーサや第1または第2基板に対して接着材を塗布する必要がなくなるため、分析用具の製造効率がよくなる。

【0027】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の好ましい実施の形態について、図面を参照しつつ具体的に説明

する。

【0028】

図1ないし図3に示したグルコースセンサXは、使い捨てとして構成されたものであり、比色によりグルコース濃度を測定するように構成されたものである。このグルコースセンサXは、長方形の第1および第2板材1，2を、一对のスペーサ3を介して接合した形態を有しており、各要素1～3により、第1および第2板材1，2の長手方向に延びるキャピラリ4が規定されている。

【0029】

第1および第2板材1，2は、PET、PMMA、ビニロンなどにより透明に形成されている。これらの板材1，2には、キャピラリ4の内部に収容された状態で第1および第2試薬部51，52が設けられている。各試薬部51，52は、血液に対して溶解しやすい固体状に形成されており、それらの試薬部51，52のうちの少なくとも一方は発色剤を含んだものとして構成される。このため、キャピラリ4に血液を導入した場合には、キャピラリ4の内部には、グルコースおよび発色剤を含む液相反応系が構築される。

【0030】

発色剤としては、公知の種々のものを用いることができるが、電子授受により発色したときの吸収波長が、血液の吸収波長からはずれたものを用いるのが好ましい。発色剤としては、たとえばMTT(3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)を用いることができる。

【0031】

第1および第2試薬部51，52は、電子伝達物質あるいは酸化還元酵素を含んだものとして構成してもよい。そうすれば、グルコースと発色剤との間の電子授受をより速く行うことができるようになるため、測定時間を短くすることが可能となる。

【0032】

酸化還元酵素としては、たとえばGODやGODを用いることができ、典型的にはPQQGDHが使用される。電子伝達物質としては、たとえば [Ru(NH₃)₆]Cl₃、K₃[Fe(CN)₆]あるいはmethoxy-PMS (5-methylphenazinium methylsulfate) を使用するこ

とができる。

【0033】

第1および第2試薬部51, 52の組成は、同一であってもよいし、異なるものであってもよい。ただし、methoxy-PMSのような不安定な試薬（反応性の高い試薬）を用いる場合には、そのような試薬を他の試薬と分離するのが好ましく、その場合には、たとえば第1試薬部51に不安定な試薬を含ませ、第2試薬部52にその他の試薬が含ませられる。

【0034】

一対のスペーサ3は、第1および第2板材1, 2の間の距離、すなわちキャピラリ4の高さ寸法Hを規定し、かつキャピラリ4の幅寸法Wを規定するためのものである。グルコースセンサXでは、一対のスペーサ3が一定の間隔を隔てて配置されており、当該間隔がキャピラリ4の幅寸法Wとなる。一方、各スペーサ3の厚み寸法は、キャピラリ4の高さ寸法Hに対応している。

【0035】

キャピラリ4は、その内部が開口部40, 41を介して外部と連通している。開口40は、キャピラリ4の内部に血液を導入するためのものであり、開口41は、キャピラリ4の内部の空気を排出するためのものである。このようなキャピラリ4では、キャピラリ4の内部において生じる毛細管力により、キャピラリ4に導入された血液が移動する。

【0036】

キャピラリ4の幅寸法Wは、たとえば0.05~10mmに形成され、キャピラリの高さ寸法（対面距離）Hは、たとえば1mm以下に形成される。ただし、測定時間を短くする観点からは、キャピラリ4の高さ寸法Hは、300μm以下に設定され、さらに好ましくは200μm以下とされる。一方、キャピラリ4への血液の導入を確実ならしめる観点からは、キャピラリ4の高さ寸法Hは、30μm以上に設定するのが好ましい。

【0037】

グルコースセンサXでは、開口40を介してキャピラリ4に血液を供給した場合には、図4 (a) および (b) に示したように、キャピラリ4において生じる

毛細管現象により、血液がキャピラリ4の内部を進行する。血液の進行過程においては、血液により試薬部51，52が溶解させられ、キャピラリ4の内部に液相反応系42が構築される。血液の進行は、血液が開口41に到達したときに停止する。

【0038】

液相反応系42においては、グルコースから取り出された電子が発色剤に供給されて発色剤が発色し、液相反応系42が着色される。第1または第2試薬部51，52において、酸化還元酵素および電子伝達物質が含まれている場合には、酸化還元酵素が血液中のグルコースと特異的に反応してグルコースから電子が取り出され、その電子が電子伝達物質に供給された後に発色剤に供給される。したがって、発色剤の発色の程度（液相反応系の着色の程度）は、グルコースから取り出された電子の量、すなわちグルコース濃度に相関している。

【0039】

液相反応系42の着色の程度は、たとえば液相反応系42に対して第1板材1を介して光を照射し、そのときに液相反応系42を透過して第2板材2から出射する光を受光することにより検知される。液相反応系42に照射する光は、発色剤の発現色における吸収の大きな波長の光のものが採用される。最終的なグルコース濃度は、液相反応系42に対して入射させた入射光の強度と、液相反応系42を透過した透過光の強度と、に基づいて演算することができる。

【0040】

グルコースセンサXでは、第1および第2試薬部51，52が互いに対面するよう、第1および第2板材1，2に分かれて形成されている。そのため、キャピラリ4における高さ方向に関しては、発色剤の濃度を均一化するために必要な発色剤の拡散距離が小さくなる。

【0041】

すなわち、第1および第2板材1，2のうちの一方にのみ試薬部が形成されている場合には、試薬部が形成されていない板材の表面にまで発色剤を拡散させなければ、発色剤の濃度を均一化することができない。これに対して、第1および第2板材1，2に試薬部51，52が形成されている場合には、試薬部51，5

2が溶解し始めた段階では、各基板の表面での発色剤の濃度が高く、それの中間の濃度が小さくなるため、発色剤の濃度を均一化するためには、第1および第2板材1，2の中間にまで発色剤を拡散させればよい。このため、第1および第2板材1，2の双方に試薬部51，52が形成されている場合には、発色剤の濃度を均一化させるのに必要な発色剤の拡散距離が、一方の板材にのみ試薬部が形成されている場合に比べて半分となる。

【0042】

このことは、第1および第2板材1，2に第1および第2試薬部51，52が形成されている場合には、液相反応系において発色剤を均一に分散させるのに必要な時間が短く、反応時間を短くできることを意味している。

【0043】

一方、グルコースに着目すれば、反応前においては液相反応系における未反応のグルコースの濃度は略均一であるが、反応がある程度進行すれば、発色剤の濃度の大きな領域に関しては未反応のグルコースの濃度が小さく、それとは逆に、発色剤の濃度の領域に関しては未反応のグルコースの濃度が大きくなる。このため、測定時間を短くするためには、発色剤ばかりでなく、未反応のグルコースに関しても、液相反応系において拡散させて濃度が均一化されるのが好ましい。このとき、グルコースセンサXのように、第1および第2板材1，2に第1および第2試薬部51，52が形成されていれば、発色剤と同様な理由により、濃度を均一化するために必要な未反応グルコースの拡散距離が短くなる。この点からも、第1および第2板材1，2に第1および第2試薬部51，52が形成すれば、反応時間を短くすることができるといえる。

【0044】

グルコースセンサXではさらに、後述の実施例からも明らかとなるが、対面距離Hを $300\mu m$ 以下とすることにより、測定時間のさらなる短縮化が可能となる。すなわち、対面距離Hを小さくすることにより、発色剤や未反応のグルコースの濃度を均一化させるために必要な拡散距離が、高さ方向に関して小さくなる。その結果、グルコースセンサXでは、発色剤を発色させるために必要な反応が生じやすくなり、目的とする反応状態（液相反応系の着色）を得るための時間が

短くなつて測定時間を短くすることが可能となる。

【0045】

次に、グルコースセンサXの製造方法を、図5ないし図8を参照して説明する。

【0046】

図5に示したように、グルコースセンサX（図1ないし図3参照）を製造するに当たっては、まず透明基板6を準備する。この透明基板6には、互いに直交する方向に延びる複数の第1および第2切断ライン61，62が設定されており、それらの切断ライン61，62によって囲まれる領域が、グルコースセンサ形成領域63とされている。

【0047】

次いで、図6に示したように、各第1切断ライン61を覆うように、一定間隔隔てて複数の両面テープ64を貼着する。続いて、図7に示したように、各グルコースセンサ形成領域63に試薬部65を形成し、第1次中間体66を作成する。各試薬部65は、たとえば発色剤、酸化還元酵素および電子伝達物質を含む試薬液を塗布した後に、試薬液を送風乾燥させることにより形成される。

【0048】

同様に、図5ないし図7を参照して説明した工程を経て、第1次中間体66をもう1つ作成し、図8に示したように、第1次中間体66どうしを相互に接合する。このとき、各第1次中間体66の試薬部65どうしが互いに対面するようにし、両面テープ64の粘着力を利用して第1次中間体66どうしを接合して第2次中間体（図示略）を作成する。最後に、第2次中間体を、第1および第2切断ライン61，62に沿つて切断することにより、図1ないし図3に示したグルコースセンサXが得られる。

【0049】

本発明のグルコースセンサは、本実施の形態において説明した形態には限定されず、たとえば図9（a）～（d）および図10に示したような構成とすることもできる。

【0050】

図9（a）に示した例は、第1板材1Aに第1試薬部51Aを形成する一方で、第2板材2Aに断面矩形の凹部20Aを形成し、この凹部20Aの内部に第2試薬部52Aを形成したものである。この例では、対面距離Hは、凹部20Aの底面と第1板材1Aとの間の距離となる。

【0051】

図9（b）に示した例は、キャピラリ4Bの断面形状を半円状としたものである。より具体的には、第2基板2Bに断面が半円の凹部20Bを形成し、この凹部20Bの内部に第2試薬部52Bを形成したものである。この例では、対面距離Hは、凹部20Bの最深部と第1板材1Bとの間の距離となる。

【0052】

図9（c）に示した例は、キャピラリ4Cの断面形状が円形とされたものである。より具体的には、第1および第2基板1C、2Cの双方に半円状の凹部10C、20Cが形成され、それらの凹部10C、20Cに第1および第2試薬部51C、52Cが形成されたものである。第1および第2試薬部51C、52Cは、図面上では互いに連続したものとして形成されているが、それらの試薬部51C、52Cが互いに分離されていてもよい。この例では、対面距離Hは、キャピラリの径となる。

【0053】

図9（d）に示した例は、キャピラリ4Dの断面形状が長円形とされたものである。より具体的には、スペーサ3Dを介して互いに接合された第1および第2透明1D、2Dの双方に、半円状の凹部10D、20Dが形成され、それらの凹部10D、20Dに第1および第2試薬部51D、52Dが形成されたものである。第1および第2試薬部51D、52Dは、スペーサ3Dによって互いに分離されたものとされている。この例では、対面距離Hは、凹部10D、20Dの最深部位置の間の距離となる。

【0054】

図10（a）および（b）に示したグルコースセンサX'は、透明な円管7の内部に試薬部70が形成されたものである。グルコースセンサX'は、図9（c）に示した例と同様に断面円形状のキャピラリ71を備えたものであるが、キャ

ピラリ71が円管7によって規定されている点において、図9(c)に示した例とは異なっている。このグルコースセンサX'では、対面距離Hは、円管7の内径となる。

【0055】

本実施の形態においては、入射光と透過光の強度に基づいてグルコース濃度を測定できるように構成されたグルコースセンサについて説明したが、本発明は、入射光と反射光の強度に基づいて、グルコース濃度を測定できるように構成されたグルコースセンサについても適用できる。もちろん、本発明は、比色によりグルコース濃度を測定するように構成されたグルコースセンサに限らず、電極法によりグルコース濃度を測定するように構成されたグルコースセンサにも適用することができる。

【0056】

本発明は、血液中のグルコース以外の成分、たとえばコレステロールなどを分析する場合にも適用でき、また血液以外の試料、たとえば尿などを分析する場合にも適用できる。

【0057】

グルコースセンサXは、毛細管力により試料を移動させるように構成されていたが、ポンプなどの動力により試料を移動させるように構成してもよいし、また必ずしも試料を移動させる構成を採用する必要もない。

【0058】

【実施例】

以下においては、実施例1、比較例1, 2として、試料としてグルコース溶液を用いた場合に、グルコースセンサにおける試薬部の形成態様が、測定時間に与える影響について、吸光度の経時変化を測定することにより検討する。この検討に先んじて、参考例として、試料としてグルコース溶液を用いた場合に、グルコースセンサにおけるキャピラリの高さ寸法(対面距離)が、測定時間に与える影響について、吸光度の経時変化を測定することにより検討する。

【0059】

(参考例で使用したグルコースセンサの作成方法)

参考例においては、3種類のグルコースセンサを用いたが、これらのグルコースセンサは、基本的には同様な構成であり、両面テープ（スペーサ）の厚み寸法を規定することにより、キャピラリの厚みが異なったものとされている。各グルコースセンサの作成においては、まず、寸法が10mm×30mm×0.2mmであるP E T製の第1透明板に、一対の両面テープを3mmの間隔を隔てて貼着した。両面テープは、キャピラリの厚み寸法を規定するものであるが、各グルコースセンサに使用した両面テープの厚みは、表1に示した通りである。次いで、上記間隔における3mm×3mmの領域に試薬液を分注した後に、試料液を送風乾燥（30℃、10%Rh）させて試薬部を形成した。各グルコースセンサを作成するときの試料液の分注量は、表1に示した通りである。すなわち、試料液の分注量は、キャピラリの容積に応じて設定されており、グルコースセンサは、キャピラリに血液を導入したときにキャピラリ内での試薬濃度が同一なものとなるようになされている。続いて、10mm×30mm×0.2mmであるP E T製の第2透明板を、両面テープを介して第1透明板に接合することにより参考例において使用するグルコースセンサを得た。

【0060】

【表1】

| | 両面テープの厚み寸法 | 試料液組成 | | | | 分注量 |
|------------|------------|--------------------------|----------------------|---------------|--------------------------|-----|
| | | 酵素 | メディエータ | 発色剤 | バッファ | |
| 参考センサ(200) | 200μm | PQQGDH 1000 (U/mL) | methoxy-PMS (3mM) | MTT (40mM) | PIPES (pH7) (80mM) | 4μL |
| 参考センサ(100) | 100μm | | | | | 2μL |
| 参考センサ(60) | 60μm | | | | | 1μL |

【0061】

表1において、PQQGDHは、ピロロキノリンキノンを補酵素とするグルコースデヒドロゲナーゼ、PMSは5-methylphenazinium methylsulfate、MMTは3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide、PIPESは、Piperazine-1,4-bis(2-ethanesulfonic acid)の略号である。

【0062】

(実施例1および比較例1, 2で使用したグルコースセンサの作成方法)

実施例1で使用したグルコースセンサは、第1および第2透明基板の双方に試

薬部を形成したものである。具体的には、グルコースセンサは、第1透明基板に一对の両面テープを貼着した後に第1試薬部を形成する一方、第2透明基板に一对の両面テープを貼着した後に第2試薬部を形成し、第1および第2透明基板どうしを、第1および第2試薬部どうしが対面するようにして接合することにより形成した。

【0063】

一方、比較例1、2で使用したグルコースセンサは、基本的には参考例と同様にして、第1透明基板にのみ試薬部が形成されたものとして作成した。ただし、使用した両面テープ、試薬液の組成および分注量は、表2に示したとおりである。

【0064】

【表2】

| | 両面テープの 厚み寸法 | 試料液組成 | | | | 分注量 |
|------|---------------------|--------------------------|---|---------------|--------------------------|----------------|
| | | 酵素 | メディエータ | 発色剤 | バッファ | |
| 実施例1 | 120 μm (60 μm×2) | PQQGDH 1000 (U/mL) | [Ru(NH ₃) ₆]Cl ₃ (10mM) | MTT (40mM) | PIPES (pH7) (80mM) | 1つの基板につき1 μLずつ |
| 比較例1 | 120 μm (60 μm×2) | | | | | 2 μL |
| 比較例2 | 60 μm | | | | | 1 μL |

【0065】

(吸光度の測定)

吸光度の測定においては、試薬部が設けられていた領域に対して、キャピラリの高さ方向に沿って光を照射し、そのときにグルコースセンサを透過した光を受光した。光の照射は、発光ダイオードを用いて、630 nmの光を照射することにより行った。透過光は、フォトダイオードにおいて受光した。吸光度は、下記数式1により算出した。

【0066】

【数1】

$$ABS(\text{吸光度}) = \log(I_1 / I_2)$$

(式中において、I₁は入射光の強さであり、I₂は透過光の強さである)

【0067】**参考例**

本参考例においては、キャピラリの厚みの異なる3種類のグルコースセンサ（参考センサ(200)、参考センサ(100)、参考センサ(60)）を用いて、厚みと測定時間との関係について検討した。グルコースセンサとしては、表1に示したように、キャピラリの厚み寸法が異なる3種類を使用した。本参考例では、グルコースセンサ毎に、濃度の異なる4種類のグルコース溶液（0mg/dL、200mg/dL、400mg/dL、600mg/dL）について、吸光度を経時的に測定した。各参考センサでの測定結果を、それぞれ図11（a）～（c）に示した。

【0068】

図11（a）に示したように、キャピラリの厚み（対面距離）が $200\mu\text{m}$ の参考センサ(200)では、吸光度の経時変化が小さく、グルコース濃度が400mg/dLや600mg/dLの場合には、血液の導入開始から30秒経過しても、最大吸光度に対して十分に漸近していない。そのため、参考センサ(200)においては、血液の導入開始から30秒以内でのグルコース濃度の測定が困難であり、また血液の導入開始から30秒以内で精度よくグルコース濃度を測定するすれば、測定レンジが狭くならざるをえない。

【0069】

図11（b）に示したように、キャピラリの厚み（対面距離）が $100\mu\text{m}$ の参考センサ(100)では、グルコース濃度が600mg/dLの場合であっても、血液の導入開始から10秒程度で、最大吸光度に対して十分に漸近している。そのため、参考センサ(100)においては、少なくともグルコース濃度が0～600mg/dLの範囲において、血液の導入開始から10秒程度でグルコース濃度の測定を精度よく行うことが可能となる。

【0070】

図11（c）に示したように、キャピラリの厚み（対面距離）が $60\mu\text{m}$ の参考センサ(60)では、グルコース濃度が600mg/dLの場合であっても、血液の導入開始から5秒程度で、最大吸光度に対して十分に漸近している。そのため、参考センサ(60)においては、少なくともグルコース濃度が0～600mg/dL

Lの範囲において、血液の導入開始から5秒程度でグルコース濃度の測定を精度よく行うことが可能となる。

【0071】

これらの結果から分かるように、液相反応系の試薬濃度が同一に設定されている場合において、吸光度が最大値に漸近するまでの時間は、キャピラリの厚み寸法が小さくなるにしたがって短くなっている。したがって、グルコースセンサにおいては、キャピラリにおける試薬部の法線方向の距離（対面距離）を小さく、たとえばその距離を $150\mu\text{m}$ 以下、より好ましくは $75\mu\text{m}$ 以下とすることにより、測定時間を短くすることができるといえる。

【0072】

実施例1

本実施例においては、グルコースセンサとして2つの試薬部が対面形成されたもの(図1ないし図3参照)を用いて、吸光度を経時的に測定した。吸光度は、濃度の異なる3種類のグルコース溶液(0mg/dL 、 200mg/dL 、 400mg/dL)について測定した。その結果を、図12(a)に示した。

【0073】

図12(a)に示したように、キャピラリの厚み（対面距離）が $120\mu\text{m}$ であり、かつ対面した2つの試薬部が設けられた本案センサでは、グルコース濃度が 600mg/dL の場合であっても、血液の導入開始から10秒程度で、最大吸光度に対して十分に漸近している。そのため、本案センサにおいては、少なくともグルコース濃度が $0\sim600\text{mg/dL}$ の範囲において、血液の導入開始から10秒程度でグルコース濃度の測定を精度よく行うことが可能となる。

【0074】

比較例1

本比較例においては、グルコースセンサとして、実施例1のグルコースセンサと同一構成のキャピラリを有し、かつ1つの試薬部が形成されたものを用いて、吸光度を経時的に測定した。吸光度は、濃度の異なる3種類のグルコース溶液(0mg/dL 、 200mg/dL 、 400mg/dL)について測定した。その結果を、図12(b)に示した。

【0075】

図12（b）に示したように、キャピラリの厚み（対面距離）が $120\mu\text{m}$ であり、かつ片面にのみ試薬部が設けられた比較センサ1では、吸光度の経時変化が小さく、グルコース濃度が 600mg/dL の場合には、血液の導入開始から30秒経過しても、最大吸光度に対して十分に漸近していない。そのため、比較センサ1においては、血液の導入開始から30秒以内でのグルコース濃度の測定が困難であり、また血液の導入開始から30秒以内で精度よくグルコース濃度を測定するとなれば、測定レンジが狭くならざるをえない。

【0076】**比較例2**

本比較例においては、グルコースセンサとして、キャピラリの厚みが $60\mu\text{m}$ のものを用いた以外は、比較例1と同様にして、吸光度を経時的に測定した。吸光度は、グルコース濃度が異なる 0mg/dL 、 200mg/dL 、 400mg/dL 相当の血液について測定した。その結果を、図12（c）に示した。

【0077】

図12（c）に示したように、キャピラリの厚み（対面距離）が $60\mu\text{m}$ であり、かつ1つの試薬部が設けられた比較センサ2では、実施例1と同様な結果が得られている。

【0078】

実施例1のように、試薬部を対面形成したグルコースセンサでは、実質的に、対面距離が小さい場合（比較例2）と同様な効果が得られている。このことは、試薬部を対面形成した場合には、第1に、対面距離が大きい場合であっても測定時間を短くすることができ、第2に、対面距離を小さくすれば、一方の基板に試薬部を形成する場合では得られない短時間の測定が可能であることを意味している。したがって、2つの試薬部を対面するように形成したグルコースセンサでは、測定時間を著しく短くすることができる。

【図面の簡単な説明】**【図1】**

本発明に係るグルコースセンサの一例を示す全体斜視図である。

【図2】

図1のII-II線に沿う断面図である。

【図3】

図1のIII-III線に沿う断面図である。

【図4】

キャピラリにおける血液の進行状態を説明するための図3に相当する断面図である。

【図5】

本発明に係るグルコースセンサの製造方法において使用する基板の全体斜視図である。

【図6】

図5に示した基板に両面テープを貼着した状態を示す全体斜視図である。

【図7】

図6に示した状態の基板に対して、複数の試薬部を形成した状態を示す全体斜視図である。

【図8】

複数の試薬部が形成された基板どうしを接合する状態を示す全体斜視図である。

【図9】

本発明に係るグルコースセンサの他の例を示す断面図である。

【図10】

(a) は本発明に係るグルコースセンサのさらに他の例を示す一部破断斜視図であり、(b) はその断面図である。

【図11】

参考例における結果を示すグラフであり、グルコースセンサでの吸光度の経時的変化を示すグラフである。

【図12】

グルコースセンサでの吸光度の経時的変化を示すグラフであり、(a) は実施例1、(b) は比較例1、(c) は比較例2での測定結果である。

【図13】

従来のグルコースセンサを説明するための全体斜視図である。

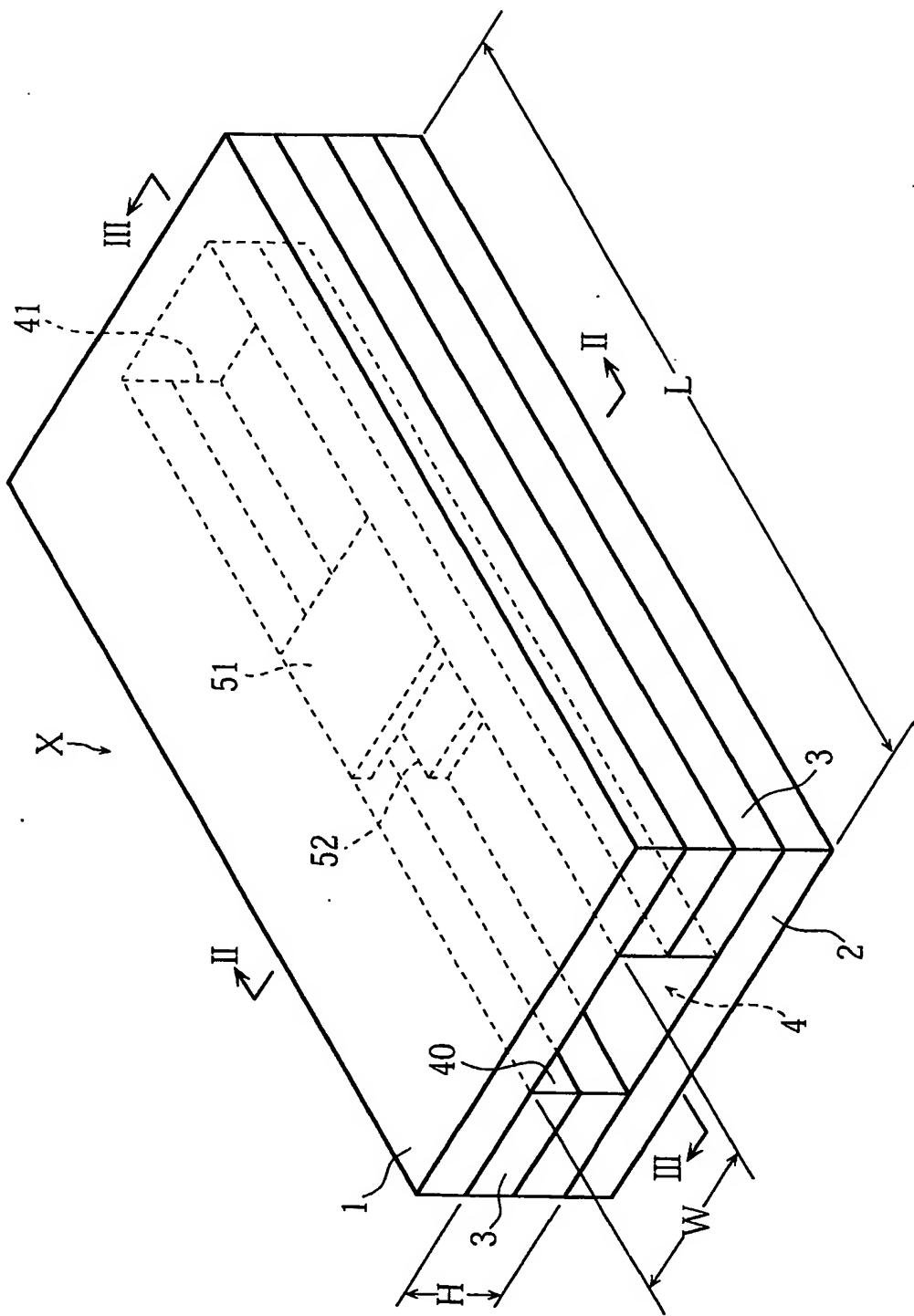
【符号の説明】

- X、X' グルコースセンサ（分析用具）
1, 1A, 1B, 1C, 1D 第1板材
2, 2A, 2B, 2C, 2D 第2板材
3 スペーサ
4, 4B, 4C, 4D キャピラリ（反応空間）
5 1, 5 1A, 5 1C, 5 1D 第1試薬部
5 2, 5 2A, 5 2B, 5 2C, 5 2D 第2試薬部
6 透明基板（第1または第2基板）
6 4 両面テープ
6 5 試薬部（第1または第2試薬部）
H 対面距離

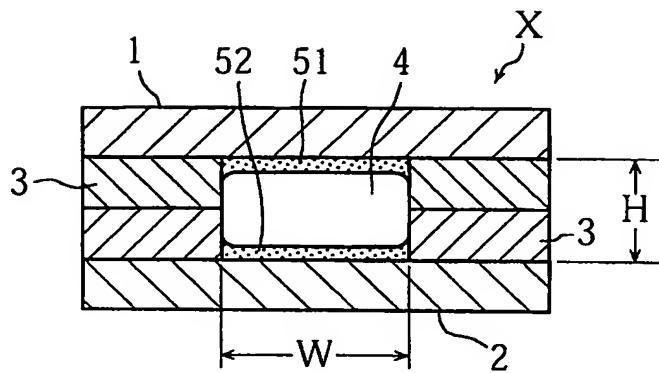
【書類名】

図面

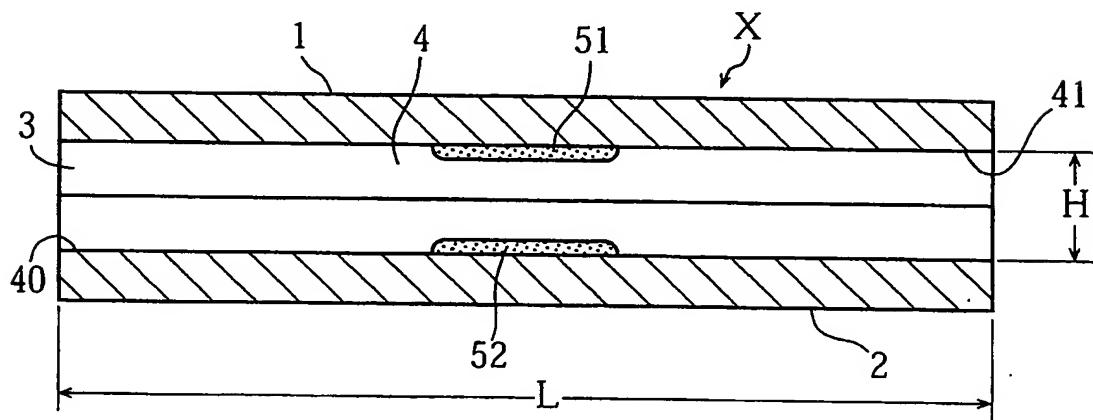
【図1】



【図2】

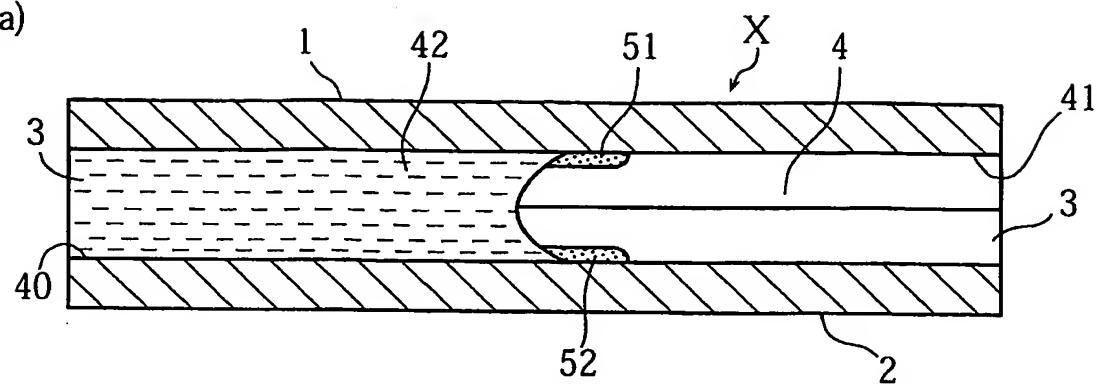


【図3】

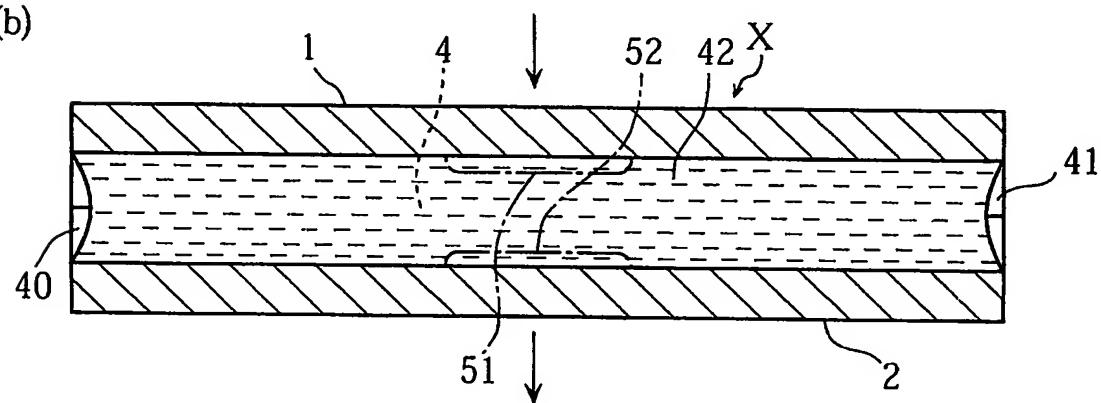


【図 4】

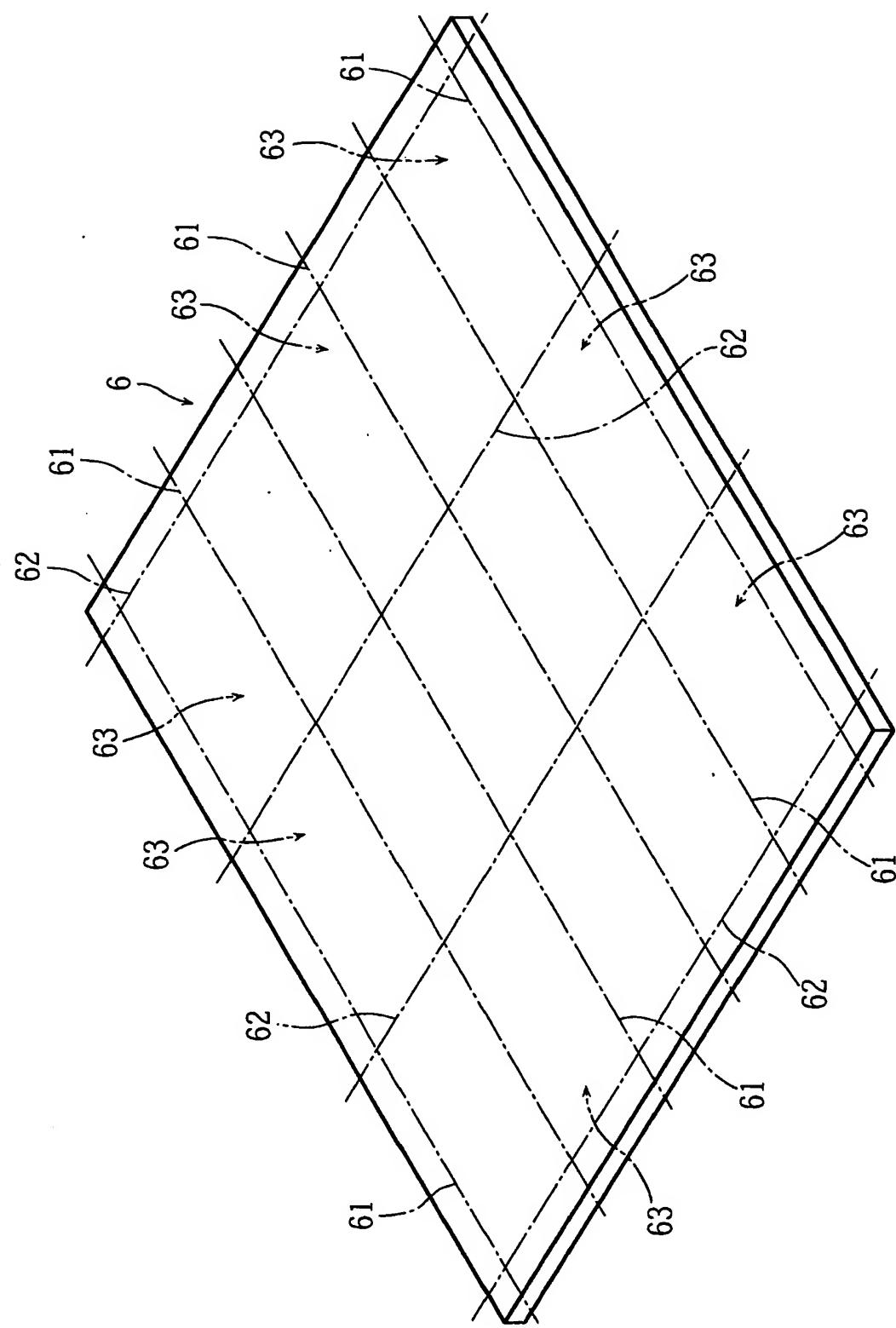
(a)



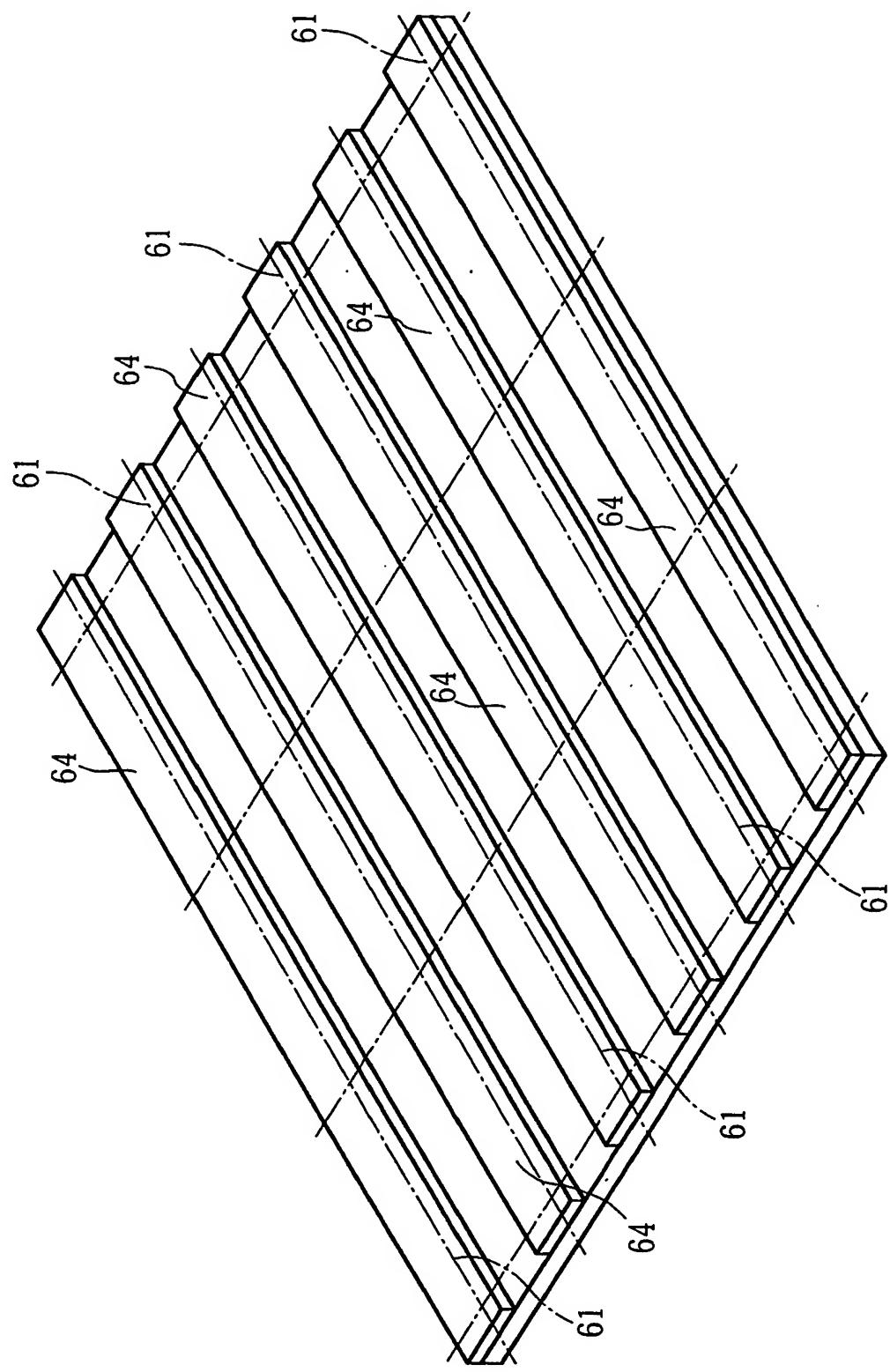
(b)



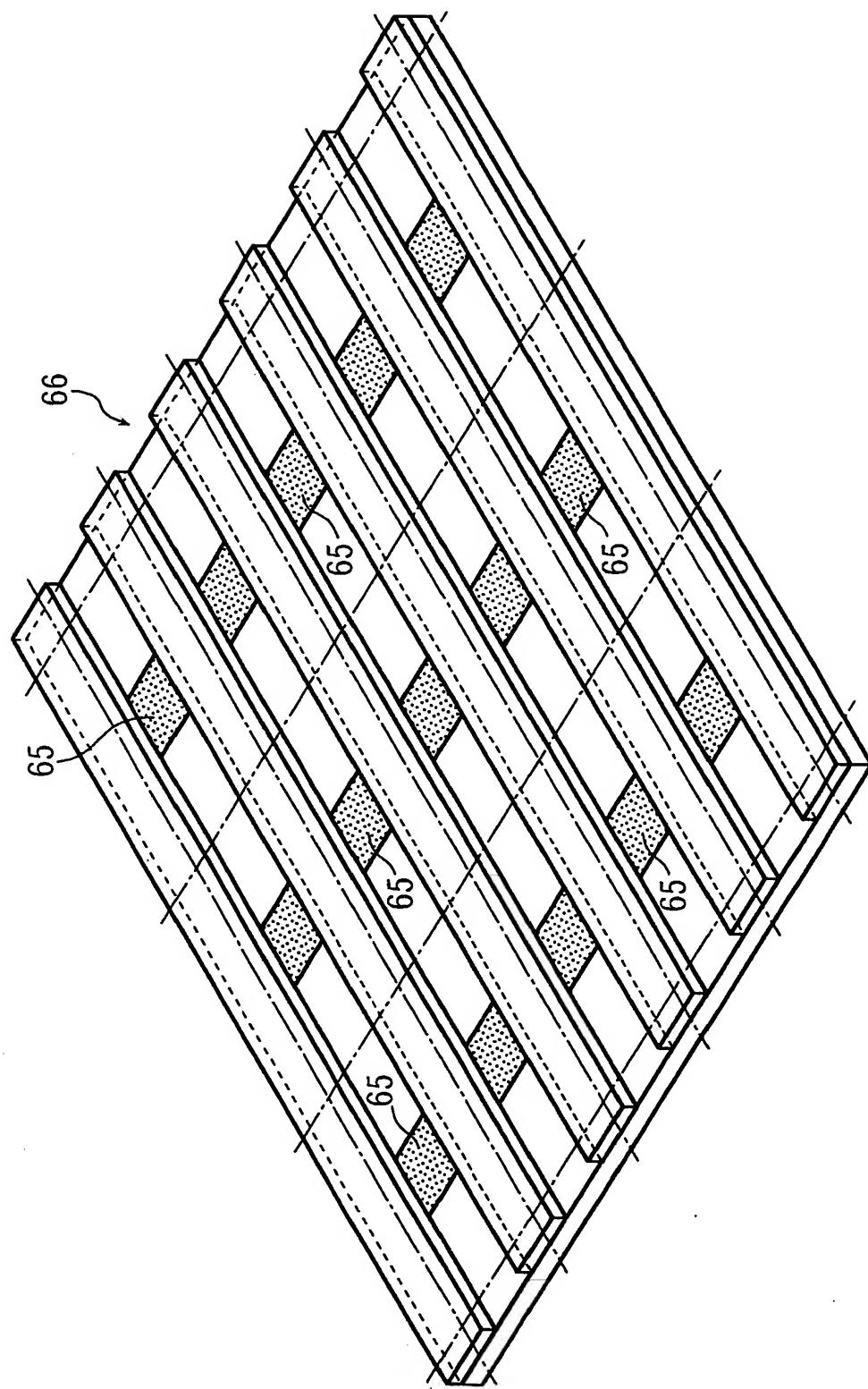
【図5】



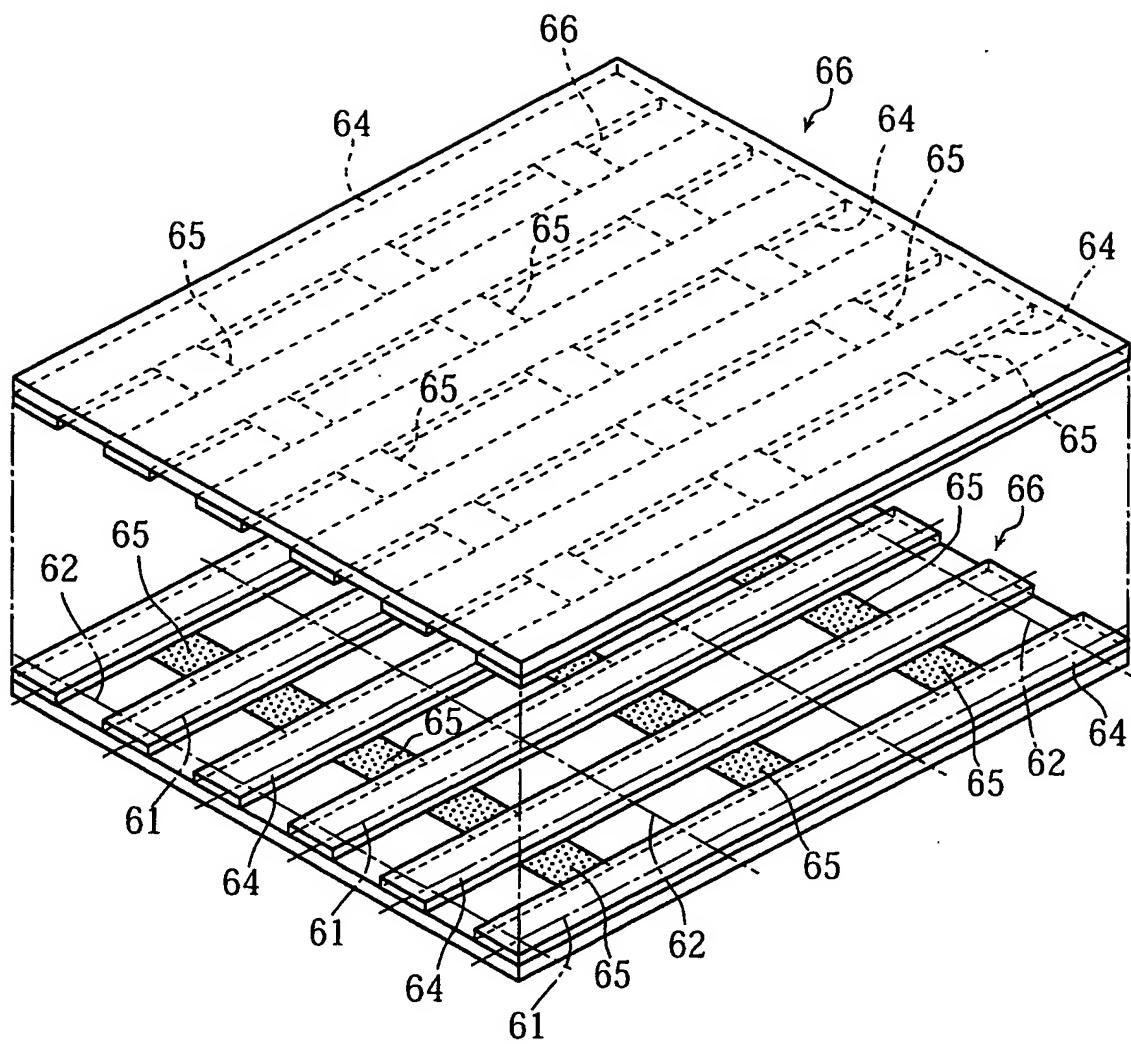
【図 6】



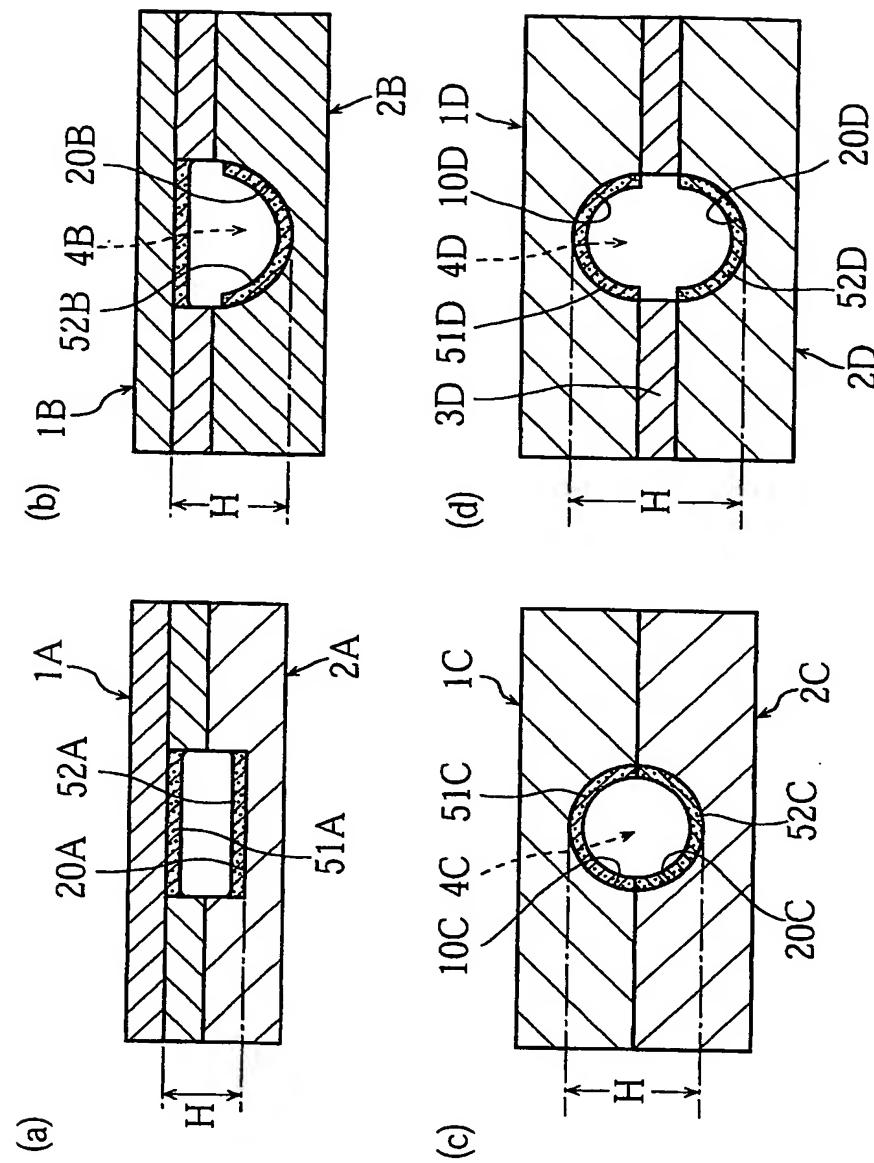
【図7】



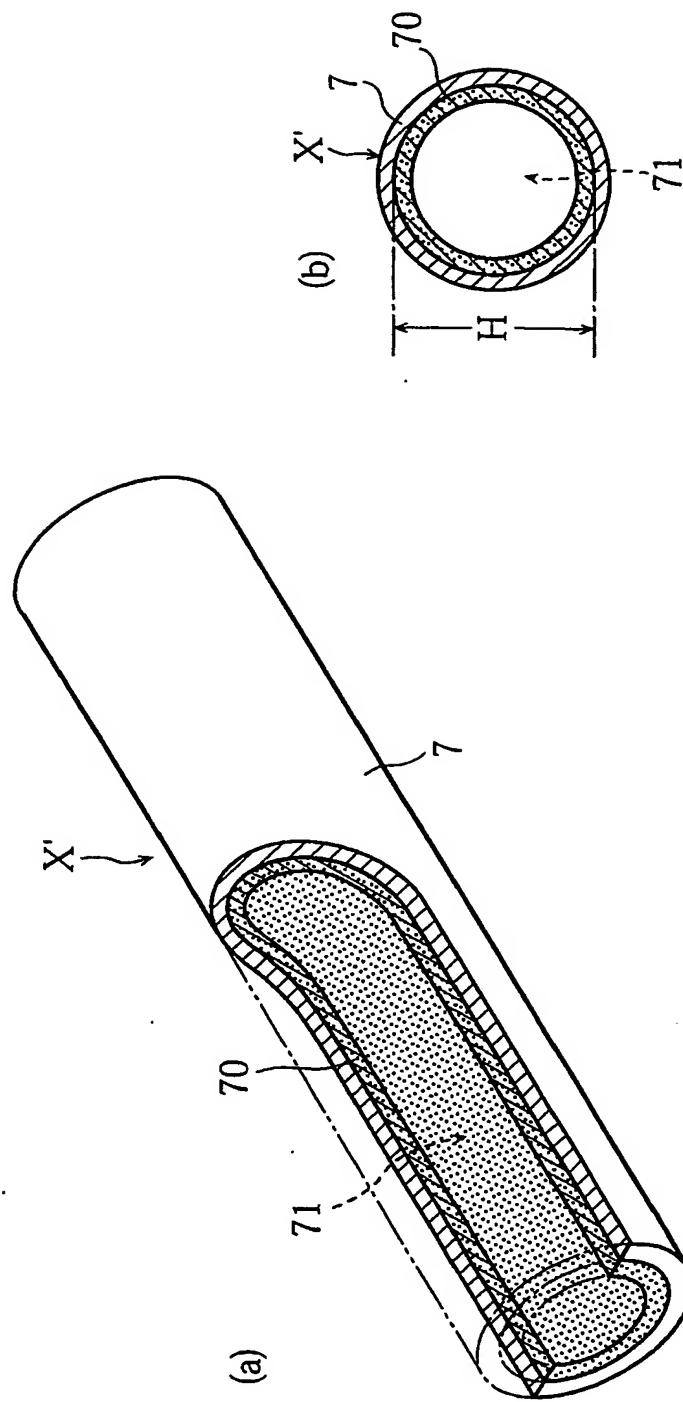
【図8】



【図9】

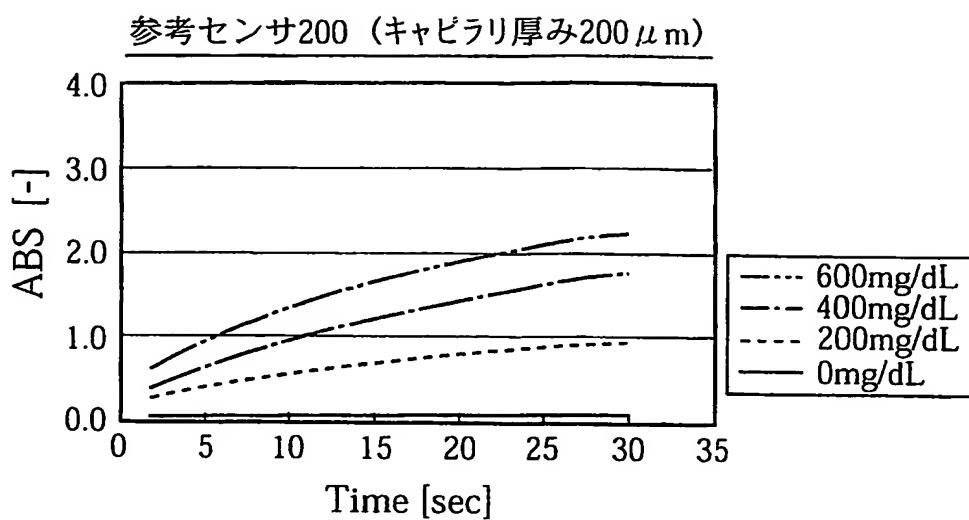


【図10】

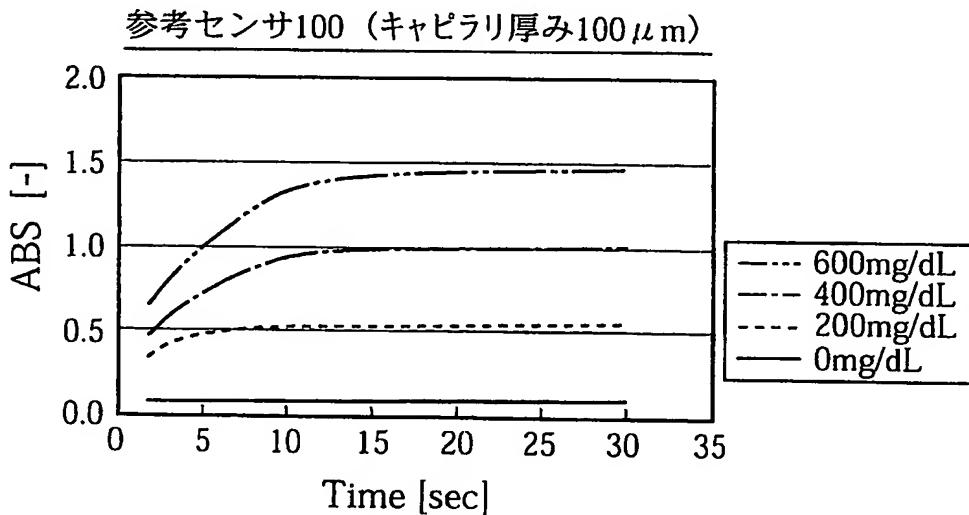


【図11】

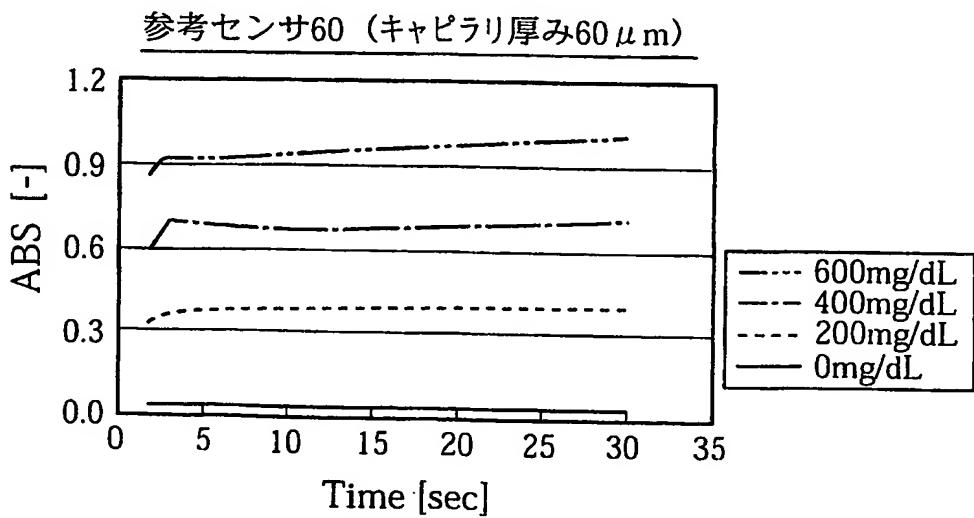
(a)



(b)

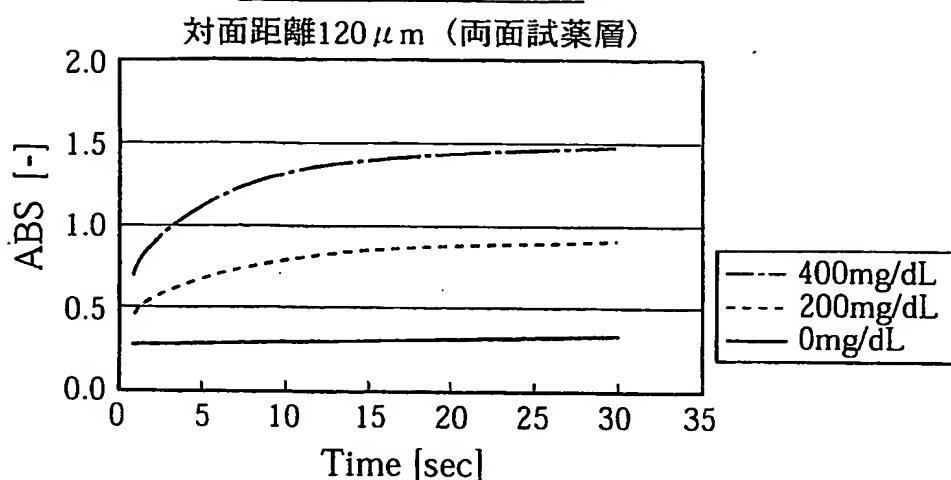


(c)

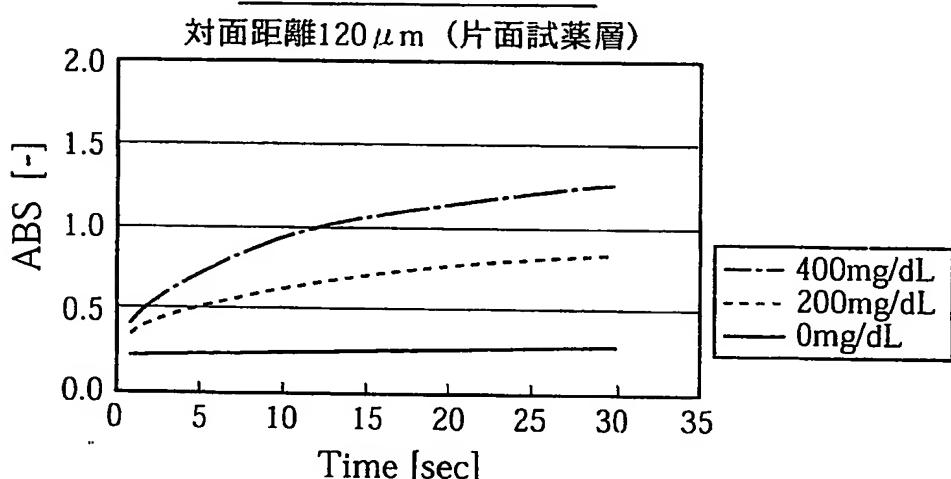


【図12】

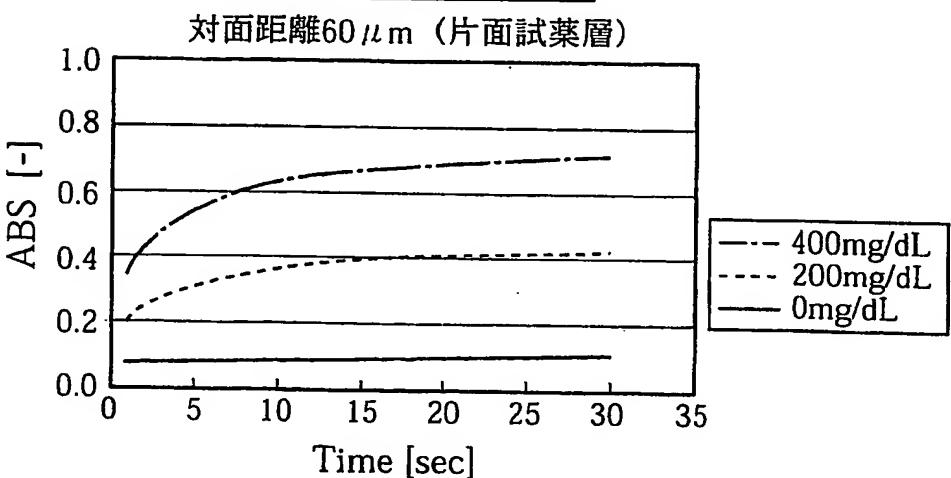
(a)

実施例1（本案センサ）

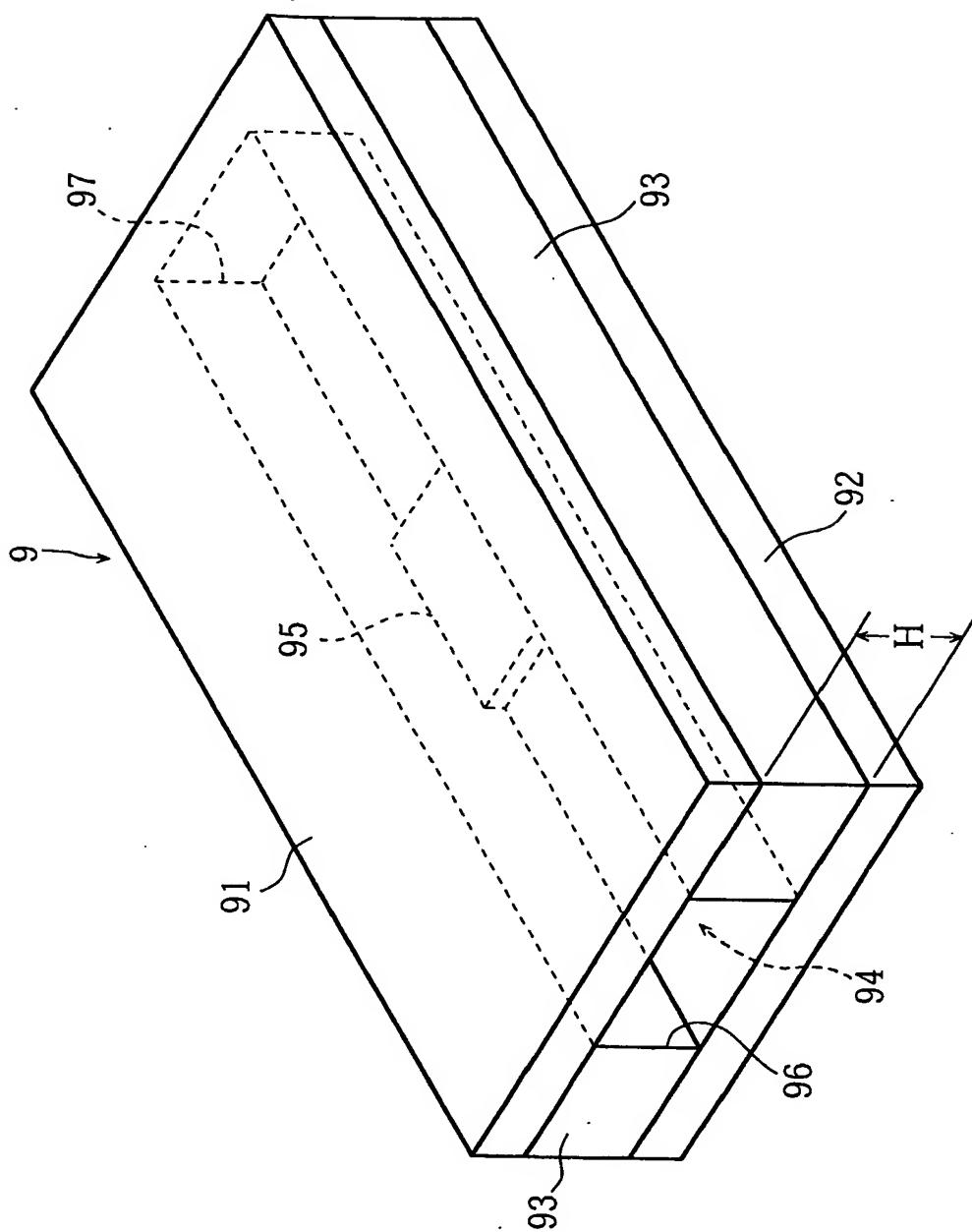
(b)

比較例1（比較センサ1）

(c)

比較例2（比較センサ2）

【図13】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 分析時間を短くでき、また高濃度領域においても精度よく分析でき、しかも安定性に優れる分析用具を提供する。

【解決手段】 試料中の特定成分と試薬を反応させるための反応空間4を備え、特定成分を分析する際に利用される分析用具Xにおいて、反応空間4を規定する規定面に、試薬を含み、かつ反応空間4に試料が供給されたときに溶解する2つの試薬部51, 52を、互いに対面するように形成した。規定面は、第1試薬部51が形成された第1試薬保持領域と、第2試薬部52が形成され、かつ第1試薬保持領域の法線方向において第1試薬保持領域に對面する第2試薬保持領域と、を含んでいる。この場合、第1試薬保持領域と第2試薬保持領域との対面距離Hは、 $300\mu m$ 以下に設定するのが好ましい。

【選択図】 図1

特願2003-111948

ページ： 1/E

出願人履歴情報

識別番号

[000141897]

1. 変更年月日

[変更理由]

住 所

氏 名

2000年 6月12日

名称変更

京都府京都市南区東九条西明田町57番地
アークレイ株式会社